

Aspergillus oryzae RIB40 由来 unnamed protein 遺伝子の大腸菌での発現と遺伝子産物のキャラクタリゼーション

前田圭史¹⁾ ○道林泰樹¹⁾ 野瀬浩晃¹⁾ 沖昌也¹⁾ 内田博之¹⁾

¹⁾ 福井大学 工学研究科 生物応用化学専攻

【背景と目的】ギ酸オキシダーゼ (FOD) は、*Aspergillus nomius* IRI013 と *Debaryomyces vanrijae* MH201 由来の酵素しか報告されていない。我々は、最近、MH201 由来のギ酸オキシダーゼ (FOD) 遺伝子のクローニング、発現に成功し、この酵母 FOD が、Glucose-methanol-choline (GMC) oxidoreductase ファミリーに属し、FAD 結合保存配列を持つことを明らかにした。Blast 検索を行った結果、GMC oxidoreductase ファミリーに属するタンパク質の中で *A. oryzae* RIB40 由来 unnamed protein (accession no. XP001727378) が、最も高いアミノ酸配列相同性を示し、同じ FAD 結合保存配列を持っていた。本研究では、この unnamed protein をコードする遺伝子が大腸菌で発現し、発現させたタンパクの性質の検討を行った。

【結果と考察】この発現させたタンパク質は、FOD 活性を示した。本 FOD と MH201 の FOD は、可視吸収スペクトル、 K_m 値、最適 pH などは類似していたが、本 FOD は MH201 の FOD に比べて 10℃ 高い熱安定性を示した。コファクターを明らかにするため、本 FOD から熱処理により得た抽出物と FAD の可視吸収スペクトル、蛍光スペクトルの比較を行った。抽出物と FAD の両スペクトルは、抽出物が示す near-UV 領域のピークが FAD の示す near-UV 領域のピークよりも低波長側にシフトしている点を除いて、類似していた。また、HPLC 分析では、抽出物と FAD は異なるピークを示した。これらのスペクトル分析と HPLC 分析の結果、及び FOD に FAD 結合保存配列が存在することより、FOD はコファクターとして修飾された FAD を持っていると考えている。